

University of Groningen

## Importance of molecular diagnostic of viral infections in renal transplant recipients

Rurenga-Gard, Lilli

DOI:  
[10.33612/diss.92267443](https://doi.org/10.33612/diss.92267443)

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2019

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*  
Rurenga-Gard, L. (2019). *Importance of molecular diagnostic of viral infections in renal transplant recipients*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.  
<https://doi.org/10.33612/diss.92267443>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

# CHAPTER 10

Deutsche Zusammenfassung

## **EINLEITUNG**

Patienten mit einer terminalen Nierenerkrankung bietet eine Nierentransplantation signifikante Überlebenschancen und verglichen mit der Dialyse eine bessere Lebensqualität. Eine der wesentlichsten Komplikationen nach einer Nierentransplantation ist das Abstoßen der Niere, Rejektion genannt.

In den letzten Jahrzehnten wurden die Mittel und Behandlungsmethoden, die das Abwehrsystem unterdrücken, die sogenannten Immunsuppressiva, stark verbessert. Das hat im ersten Jahr nach einer Transplantation zu einer 95% igen Überlebenschance des Transplantats geführt.

Im ersten Jahr nach einer Transplantation wurde insbesondere weniger akute Abstoßung (<15%) und eine 95%ige Überlebenschance des Transplantats wahrgenommen, während auf lange Sicht die Überlebensraten und Anzahl Rejektionen unverändert blieben. Letzteres ist hauptsächlich eine Folge der toxischen Nebenwirkungen der Immunsuppressiva und der zugenommenen Akzeptanz marginaler Organspender und Organempfänger.

Behandelnde Ärzte müssen sich noch immer mit der Kehrseite der Immunsuppressiva auseinandersetzen, wobei die wesentlichste Komplikation die Virusinfektionen sind, die eine hohe Krankheitsbelastung und Mortalität verursachen können.

Das größte Risiko auf eine Virusinfektion besteht wegen der hohen Dosierung Immunsuppressiva in den ersten sechs Monaten nach einer Transplantation. Virusinfektionen können einerseits durch Reaktivierung latent anwesender Viren beim Empfänger und andererseits durch anwesende Viren im Spenderorgan verursacht werden. Letzteres kann zu einer primären Infektion beim Empfänger führen. Die meist vorkommenden Virusinfektionen nach einer Nierentransplantation sind der BK Polyomavirus (BKPyV), der Zytomegalievirus (CMV) und der Epstein-Barr-Virus (EBV).

Der EBV gehört zu den Gamma-Herpesviren und ist das vierte Mitglied der Herpesviridae Familie. Er ist ein viel vorkommender DNA-Virus, der bis zu 90% der Weltbevölkerung infiziert, meistens wird die Infektion während des Kindesalters oder in der frühen Adoleszenz verursacht. Nach der Infektion bleibt der Virus latent in infizierten B-Zellen anwesend. Nach einer Transplantation kann der EBV eine Posttransplantations-Lymphoproliferative-Erkrankung (PTLD) verursachen. Das ist eine maligne Degeneration einer viralen Reaktivierung und eine potentielle fatale Komplikation.

Der CMV ist das fünfte Mitglied der Herpes-Virus-Viridae und gehört zu den Beta-Herpesviren. Die Seroprävalenz des CMV in der erwachsenen Bevölkerung beträgt etwa 50% und nimmt mit zunehmendem Alter zu. In der Regel verursacht der CMV im Kindesalter bis zum frühen Erwachsenenalter eine Infektion. Eine CMV-Infektion ist die am häufigsten vorkommende opportunistische Infektion nach einer Nierentransplantation. Sie kann invasive Erkrankungen verursachen, die zu einer Transplantatabstoßung oder zu einer Dysfunktion des transplantierten Organs führen kann.

Der BKPyV ist ein nicht eingehüllter Doppelstrang-DNA-Virus, der zu der Polyomavirus-Familie gehört. Der BKPyV ist allgegenwärtig und unter der erwachsenen menschlichen Population weit verbreitet. Eine Infektion resultiert in einer lebenslangen Persistenz mit einer maximal 80%igen Seropositivität. Nach einer Nierentransplantation kommt eine BKPyV-Reaktivierung regelmäßig vor und kann zu einer BKPyV-Nephropathie (BKPyVAN) führen, die ein Transplantatverlust zur Folge haben kann.

## DISSERTATION

Die Studien in dieser Dissertation konzentrieren sich auf die Auswirkungen von BKPyV, CMV- und EBV-Infektionen nach einer Nierentransplantation. Der Fokus liegt auf der Notwendigkeit eines sorgfältigen diagnostischen Screenings und Follow-up für diese Viren, um die Behandlung der Patienten und die Transplantations-Ergebnisse zu verbessern.

Die verschiedenen BKPyV-Genotypen haben verschiedene zelluläre Tropismen und Pathogenität. Das heißt, dass nicht alle BKPyV und Untergruppen gleich viel an der Pathogenese beitragen können. Wir haben in **Kapitel 2** zunächst einen Echt-Zeit-PCR Genotypisierungs-Assays für BKPyV entwickelt. Mit diesem Test konnten die verschiedenen BKPyV-Genotypen im Vergleich zu der Sequenzanalyse schnell und einfach identifiziert werden. Die Verteilung der verschiedenen Genotypen war in unserer Studie vergleichbar mit der in der Literatur.

Genotyp I kam am häufigsten vor, dann Genotyp IV und schließlich Genotyp II.

Genotyp III wurde in unserer Kohorte überhaupt nicht gefunden. Dieser Test kann einen Mehrwert schaffen um mehr Einsicht in die Rolle dieser verschiedenen BKPyV-Genotypen zu erlangen.

Transplantierte Patienten mit einer BKPyV-Virämie zum Zeitpunkt der Transplantation können anfälliger für das Entwickeln einer BKPyVAN nach der Transplantation sein. Bis heute gibt es noch keine guten prognostischen Marker um Patienten, die Gefahr auf die Entwicklung einer

BKPyVAN laufen, vorherzusagen. Wahrscheinlich spielen hierbei MicroRNAs eine wichtige Rolle, weil sie dem Virus durch Herabregulation des großen T-Antigens helfen, der Vernichtung/Eliminierung durch das Immunsystem zu entkommen und auf den Host-Faktor gerichtet sind.

BKPyV MicroRNAs zirkulieren im Blut, Urin und in der Hirnflüssigkeit, aber es ist wenig über die Expression von BKPyVMicroRNAs bei einer frühen latenten Infektion nach einer BKPyVAN bekannt.

**In Kapitel 3** haben wir retrospektiv longitudinale BKPyVs, genomische DNA und miRNA gemessen und die Ergebnisse dann mit Patienten mit einer BKPyV- Virurie (BKPyV DNA im Urin), Virämie (BKPyV DNA im Blut) oder BKPyVAN verglichen. Wir konnten nachweisen, dass der PCR-Kurvenverlauf des BKPyV 5p und 3p miRNA mit der vom BKPyV-DNA in den unterschiedlichen Patientengruppen (Virurie, Virämie und BKPyVAN) vergleichbar ist, mit Ausnahme von Patienten mit einer persistierenden Virämie. Hier sieht man, dass während die BKPyV-DNA im EDTA-Plasma/Blut abnimmt die 3p- und 5p-BKPyV-miRNA-Mengen steigen.

Es werden noch mehr Untersuchungen erforderlich sein um zu erforschen, ob diese steigenden miRNA Mengen ein Biomarker für Patienten mit einem hohen Risiko auf das Entwickeln einer BKPyVAN sein können.

Zurzeit wird die Messung der Viruslast von BKPyV-DNA zur Identifizierung von Patienten mit einem erhöhtem Risiko auf eine BKPyVAN verwendet. Die Nutzung eines Immunsuppressivums spielt eine wichtige Rolle beim Entstehen einer BKPyVAN, weil die Inzidenz einer BKPyVAN seit der Einführung von neuen und verbesserten Immunsuppressiva zugenommen hat. **Kapitel 4 und 5** beschreiben die Studien, die die Anwendung unterschiedlicher Immunsuppressiva -Behandlungsschemen im Zusammenhang mit der Inzidenz von BKPyV und BKPyVAN bei Nieren-Organ-Empfängern untersuchen.

**Kapitel 4** richtet sich auf die Inzidenz von BKPyV-Komplikationen bei einer Gruppe, die mit Tacrolimus und Mycophenolsäure (MPA) (TacM) behandelt wurde, versus einer anderen, die mit Ciclosporin A (CsA) und MPA (CsAM) behandelt wurde. In dieser Studie wurde nachgewiesen, dass die Inzidenz einer BKPyV-Virämie in der TaCM und CsAM Gruppe vergleichbar ist, wobei ein signifikanter Unterschied in der Höhe der BKPyV-Viruslast nach sechs und zwölf Monaten wahrgenommen wurde. In der Gruppe mit der TaCM-Behandlung war die BKPyV-Viruslast im Vergleich zu der Gruppe mit der CsAM-Behandlung höher. Die höheren Werte der BKPyV-Viruslast hatten zur Folge, dass in der TaCM-Gruppe mehr BKPyVAN wahrgenommen wurde. Dahingegen war die Inzidenz durch Biopsie bewiesener akuten Abstoßung (BPAR) in der Gruppe mit der CsAM-Behandlung höher. Die Diagnose BKPyVAN und BPAR wurde meistens gestellt, bevor die Behandlung angepasst wurde. Diese Befunde stimmen mit denen, die in

der Literatur beschrieben werden, überein: eine Behandlung mit CsA steht in Zusammenhang mit einer höheren BPAR-Inzidenz.

Außerdem wird in der Literatur beschrieben, dass eine intensive Immunsuppression ein Risikofaktor für die Entwicklung von BKPyVAN ist.

Das warf die Frage auf, ob ein Immunsuppressivum oder eine Kombination verschiedener Immunsuppressiva für das erhöhte Risiko auf BKPyVAN verantwortlich ist. Wir haben diesen Aspekt retrospektiv in einer randomisierten, kontrollierten, prospektiven multizentrischen Studie mit novo Nierentransplantations-Patienten untersucht (**Kapitel 5**). In dieser Studie bestand die Erhaltungstherapie nach sechs Monaten aus Prednisolon mit entweder CsA, Mycophenolatnatrium (MPS) oder Everolimus. Wir haben nachgewiesen, dass die Inzidenz einer BKPyV-Virurie und einer BKPyVAN signifikant höher als in der mit Prednisolon und MPS behandelten Gruppe war. Auch waren die Empfänger mit einer aktiven BKPyV-Replikation, die mit Prednisolon und CsA behandelt wurden im Stande, die BKPyV-Replikation schneller zu klären. In vitro zeigten einige Studien einen suppressiven Effekt von CsA auf die BKPyV-Replikation in den mit BKPyV infizierten Zellen.

Das könnte eine Erklärung für die schnellere Klärung einer BKPyV-Virämie sein, die wir bei Empfängern, die mit CsA behandelt wurden, nachgewiesen haben (**Kapitel 4 und 5**). Folgernd aus den durchgeführten Studien (**Kapitel 4 und 5**), können Empfänger mit einem erhöhten Risiko auf das Entwickeln einer BKPyVAN, von einer immunsuppressiven Behandlung mit CsA profitieren. Diese Behandlung kann aber nur bei Empfängern mit einem geringen Risiko auf eine BPAR und einem geringen Risiko auf einen Transplantatverlust angewendet werden.

Nach einer Nierentransplantation ist außer dem BKPyV, der CMV eine viel vorkommende opportunistische Infektion und wird mit einer CMV-Erkrankung und einer geringeren Überlebenschance des Transplantats assoziiert. Die meisten Studien richten sich auf das Risiko einer primären CMV-Infektion und deren Effekt auf das Überleben des Transplantats und BPAR. Es ist bewiesen, dass der Rückgang in der Nierenfunktion einen Transplantatverlust voraussagt. Um mehr Einblick in die Viruslast des CMV und den Effekt auf die Nierenfunktion nach einer Transplantation zu gewinnen, wurde retrospektiv in **Kapitel 6** der Einfluss einer CMV viralen Spitzenlast (PVL) auf den Effekt der Nierenfunktion, drei Monate nach einer Transplantation, erforscht. Die Population wurde präemptiv auf CMV behandelt und erhielt daher nach der Nierentransplantation keine CMV-Prophylaxe.

Die Nierentransplantat-Empfänger wurden in den ersten drei Monaten nach der Transplantation auf der Grundlage des PVL Median (6310 IU/ml) in drei Gruppen kategorisiert. Wir haben

bewiesen, dass eine CMV PVL >6310 IU/ml in den ersten drei Monaten nach der Transplantation mit einer niedrigeren und unumkehrbaren Nierenfunktion bis zu 36 Monaten nach der Transplantation assoziiert wird. Da derzeit die meisten Transplantationszentren mit einer CMV-Prophylaxe nach der Transplantation starten, wäre es interessant, den Effekt auf das Resultat in der CMV PVL zu erforschen. Das ist vor allem in der Gruppe interessant, in der der Spender CMV-Antikörper (D+) und der Empfänger vor der Transplantation keine CMV-Antikörper (R-) hat, da diese Empfänger anfällig sind, eine primäre CMV-Infektion zu entwickeln. Normalerweise wird nach einer primären Infektion der Immun-Respons aktiviert, damit die Infektion geklärt wird. Jedoch empfangen die Nierentransplantat-Empfänger eine immunsuppressive Behandlung, die die Initiierung des Immun-Respons negativ beeinflusst, was zu einer schwereren Infektion führen kann. Intensives Screening mittels des Verfolgens der CMV-Viruslast in den ersten Monaten nach der Transplantation oder die Stagnierung der CMV - Prophylaxe kann dazu beitragen, Patienten zu identifizieren, die ein erhöhtes Risiko auf CMV-Komplikationen haben (**Kapitel 6**).

Zu guter Letzt haben wir die Rolle, die die Kontrolle der EBV-Viruslast spielt, erforscht. EBV ist ein anderer Virus, der klinischen Einfluss nach einer Nierentransplantation haben könnte. Bisher wurde die Viruslast des EBV-DNA nach einer Transplantation dazu verwendet, um eine Posttransplantations-Lymphoproliferative-Erkrankung (PTLD) vorherzusagen. Die Inzidenz bei Nierentransplantat-Empfängern ist im Vergleich zu anderen soliden Organtransplantat-Empfängern niedrig (1-5%) und der Wert einer Vorhersage der Höhe einer EBV-Viruslast ist für andere Implikationen/Komplikationen als eine Entstehung einer PTLD unklar. Retrospektiv haben wir in unserer Studie bewiesen, dass die Inzidenz einer Virämie bei einer Population von 384 Nierentransplantat- Empfängern (67,5%) häufig vorkam, mit nur einem nachgewiesenen Fall von PTLD.

Empfänger mit einer EBV-Virämie hatten nach 48 Monaten allerdings eine signifikant niedrigere Nierenfunktion, aber eine Virämie resultierte nicht in einer Zunahme von Transplantatverlust, BPAR oder Mortalität. (**Kapitel 7**).

Patienten mit einer primären EBV-Infektion sind im ersten Jahr nach der Transplantation für die Entwicklung einer PTLD empfänglicher. Für diese Population könnte die EBV-DNA-Kontrolle ein Mehrwert sein, um eine PTLD vorherzusagen zu können. Obschon: in dieser Gruppe ist nicht nur die EBV-Viruslast wichtig, sondern sind es auch die klinischen Symptome. In unserer Studie hatten 25% der Empfänger eine nachweisliche EBV-Viruslast höher als  $1.0 \times 10^4$  cp/ml. In dieser Gruppe entwickelte jedoch nur ein Empfänger (ohne EBV IgG Antikörpern vor der Transplantation) eine histopathologisch bewiesene PTLD. Zehn andere Empfänger mit einer hohen und einer steigenden EBV-Viruslast und klinischen Symptomen (drei von ihnen ohne

EBV IgG Antikörper vor der Transplantation), entwickelten keine PTLD. Unsere Studie (**Kapitel 7**) hat bewiesen, dass eine EBV-Viruslast-Kontrolle ein Mehrwert für die Empfänger ist, die vor der Transplantation EBV-seronegativ sind. Im Gegensatz dazu reicht bei anderen Empfängern eine EBV Viruslast-Kontrolle bei spezifischen klinische Symptomen oder Abweichungen bei klinischen Untersuchungen aus.

## SCHLUSSFOLGERUNG UND ZUKUNFTSPERSPEKTIVE

Viele Verbesserungen, wie neue Immunsuppressiva, neue chirurgische Techniken und die Identifikation von Risikofaktoren (Merkmale der Empfänger und Merkmale der Spender), haben das Überleben des Transplantats und des Patienten nach einer Nierentransplantation erhöht. Komplikationen bleiben eine Herausforderung und werden unterteilt in nicht-infektiöse (Abstoßung, Nebenwirkungen von Immunsuppressiva, allogene Dysfunktion) und infektiöse (virale-, bakterielle- und parasitäre) Komplikationen.

In dieser Dissertation haben wir uns auf Virusinfektionen mit dem BKPyV, dem CMV und dem EBV gerichtet. Wir erhielten Einsicht in die Entwicklung verbesserter diagnostischer Tests, den Effekt von immunsuppressiver Behandlung und die Frequenz der Kontrolle der anwesenden Virusmenge.

Zusammengefasst: die Implementierung diagnostischer Tests für den CMV, EBV und BKPyV tragen sicher dazu bei, um Patienten mit einem hohen Risiko auf Post-Transplantations-Komplikationen zu identifizieren. Die Herausforderung für den behandelnden Arzt liegt darin, ein gutes Gleichgewicht zwischen Abstoßung und Infektion mit der Einstellung der Immunsuppressiva zu finden.

Wie bereits eher beschrieben, wurden Einsichten in Bezug auf die klinische Bedeutung des molekularen Monitorings (Ausführen der PCR und Überwachen der anwesenden Virusmenge) des BKPyV, CMV und EBV gewonnen. Unabhängig von der Ausgangs-Immunsuppressiv-Behandlung ist es wichtig und notwendig, die richtigen diagnostischen Tests im richtigen Moment durchzuführen, so dass die Behandlung rechtzeitig angepasst werden kann und somit besser auf den individuellen Patienten abgestimmt wird, um toxische oder virale Komplikationen zu verhindern.

Auf lange Sicht bleibt die größte Herausforderung nach einer Transplantation das Überleben des Transplantats und die Prävention von Infektionen und damit einhergehende Komplikationen. Spezifische Diagnostik und Therapie sind notwendig, um dem Patienten nach seiner Transplantation die bestmögliche Versorgung zu bieten. Diagnostischer Stewardship ist der



Schlüssel zu einer maßgeschneiderten Transplantation. Das Risikoprofil eines jeden Patienten kann vor der Transplantation erstellt werden, so dass individuell, im richtigen Moment, auf dem richtigen Material state-of-the-art Diagnostik ausgeführt wird. Die behandelnden Ärzte werden bei der Anfrage und der Interpretation der Diagnostik Hilfe bekommen, so dass dann die richtige Behandlung eingestellt werden kann.

Um Schritte in Richtung einer maßgeschneiderten, mehr auf den Patienten gerichteten Diagnostik zu unternehmen, müssten Tests, die auf die Messung der T-Zellen-Immunität gerichtet sind, verwendet werden. Diese haben die Eigenschaft, ein Marker für die Verminderung des Immunsuppressivums zu sein oder sogar das Viruzid zu stoppen. Desweiteren sind Studien notwendig, um mehr Einsicht in die Funktion der Spenderniere in Bezug auf die Virusreplikation und den damit verbundenen Komplikationen zu bekommen.

Bis jetzt gibt es keine spezifischen Marker, die vorhersagen, wann die Immunsuppression zu hoch ist. Für die Calcineurininhibitoren (Tacrolimus, Ciclosporin A) werden zurzeit Talspiegel verwendet, wobei nicht deutlich ist, ob diese eher mit den toxischen Risiken/Effekten der einzelnen Medikamente oder mit ihrer immunsuppressiven Wirkung korrelieren. Ein spezifischer Marker würde es ermöglichen, die richtige Balance zu behalten/finden, damit die Risiken auf eine Infektion vermindert werden und gleichzeitig die Abwehr unterdrückende Wirksamkeit nicht zu sehr herabgesetzt wird, um eine Abstoßung zu verhindern.

Kurz gesagt, die Entwicklung in der Diagnostik und Behandlung sind äußerst wichtig, damit Patienten mit einer terminalen Nierenerkrankung eine bessere und längere Lebensqualität geboten werden kann. Aber noch wichtiger ist die Verkürzung der Warteliste potentieller Nierenempfänger. Deshalb ist es notwendig, die Bevölkerung mehr über die Notwendigkeit von Transplantationen zu informieren.



